

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-059939

(43)Date of publication of application : 06.03.2001

(51)Int.Cl. G02B 21/00
G02B 21/36

(21)Application number : 2000-177317

(71)Applicant : OLYMPUS OPTICAL CO LTD

(22)Date of filing : 13.06.2000

(72)Inventor : FUJII AKIHIRO
NAKAZATO YASUKO

(30)Priority

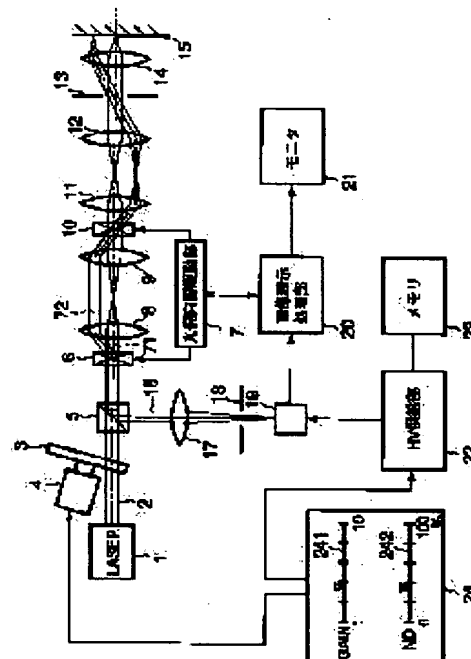
Priority number : 11167171 Priority date : 14.06.1999 Priority country : JP

(54) SENSITIVITY ADJUSTING METHOD FOR PHOTOMULTIPLIER, SCANNING TYPE LASER MICROSCOPE INTRODUCING THE SAME METHOD AND RECORDING MEDIUM RECORDING SENSITIVITY ADJUSTING PROGRAM

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To keep luminance information from the same sample constant by setting a photoreceiving sensitivity extent the same even in the case of using a photomultiplier whose photoreception sensitivity is much varied between individuals.

SOLUTION: The sample 15 is irradiated with a light beam emitted from a laser light source 1, and the light from the sample 15 is received by the photomultiplier 19 so as to obtain the luminance information, and a voltage applied by an apply voltage supply part 22 is adjusted so that an output value obtained when the light from the sample as an adjustment reference is received by the photomultiplier 19 may be at a prescribed level. And the applied voltage at this time is stored by a memory part 23 as the voltage reference value, and also, the voltage to be applied by the supply part 22 to the photomultiplier 19 is adjusted by a sensitivity adjusting part 241 to which the sensitivity adjusting extent is assigned based on the voltage reference value.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-59939
(P2001-59939A)

(43) 公開日 平成13年3月6日(2001.3.6)

(51) Int.Cl.⁷

G 0 2 B 21/00
21/36

識別記号

F I

G 0 2 B 21/00
21/36

テーマコード(参考)

審査請求 未請求 請求項の数7 O L (全12頁)

(21) 出願番号 特願2000-177317(P2000-177317)

(22) 出願日 平成12年6月13日(2000.6.13)

(31) 優先権主張番号 特願平11-167171

(32) 優先日 平成11年6月14日(1999.6.14)

(33) 優先権主張国 日本(J P)

(71) 出願人 000000376

オリンパス光学工業株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号

(72) 発明者 藤井 章弘

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ
ンパス光学工業株式会社内

(72) 発明者 中里 泰子

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号 オリ
ンパス光学工業株式会社内

(74) 代理人 100058479

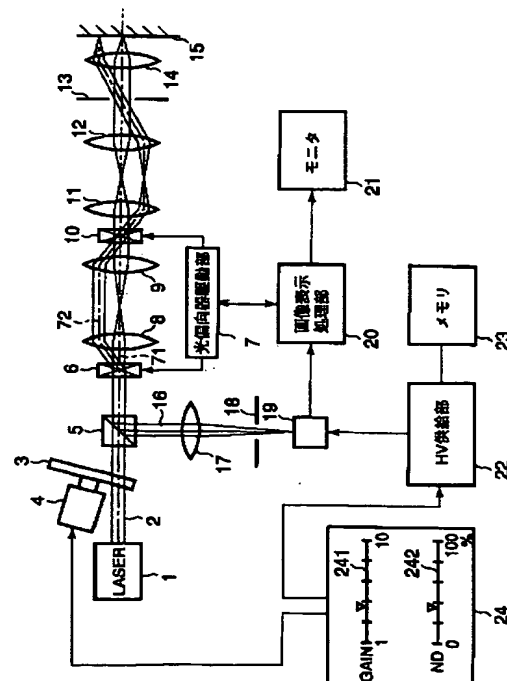
弁理士 鈴江 武彦 (外4名)

(54) 【発明の名称】 フォトマルチプライヤの感度調整方法、該感度調整方法を採用した走査型レーザ顕微鏡および感度調整プログラムを記録した記録媒体

(57) 【要約】

【課題】 本発明は、フォトマルチプライヤの受光感度範囲のバラツキをなくすることができるフォトマルチプライヤの感度調整方法、該感度調整方法を採用した走査型レーザ顕微鏡および感度調整プログラムを記録した記録媒体を提供する。

【解決手段】 レーザ光源1からの光ビームを標本15に照射し、標本15からの光をフォトマルチプライヤ19で受光させて輝度情報を取得するもので、調整基準となる標本からの光をフォトマルチプライヤ19で受光したときの出力値が規定レベルになるように印加電圧供給部22からの印加電圧を調整し、この時の印加電圧を電圧基準値としてメモリ部23に記憶するとともに、電圧基準値に基づいて感度調整範囲が割り当てられる感度調整部241により印加電圧供給部22のフォトマルチプライヤ19への印加電圧を調整する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 調整基準となる標本からの光を受光したときのフォトマルチプライヤの出力値を規定レベルにするような前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を電圧基準値とし、

この電圧基準値に基づいて前記フォトマルチプライヤへの印加電圧の範囲を感度調整範囲として設定することを特徴とするフォトマルチプライヤの感度調整方法。

【請求項 2】 前記調整基準となる標本は、観測対象の中で最も反射率が低く暗い標本からなることを特徴とする請求項 1 記載のフォトマルチプライヤの感度調整方法。

【請求項 3】 調整基準となる標本を光ビームで相対的に走査し、該標本からの光をフォトマルチプライヤで受光するとともに、このフォトマルチプライヤのアナログ信号からなる出力値に対して該フォトマルチプライヤの印加電圧を調整した後、前記フォトマルチプライヤの出力値をデジタル変換して前記標本の輝度情報を取得するためのフォトマルチプライヤの感度調整方法において、前記フォトマルチプライヤの印加電圧を初期設定する第 1 の工程と、

前記標本を走査した時の前記フォトマルチプライヤの出力値が規定値になるような前記印加電圧を算出する第 2 の工程と、

この第 2 の工程で算出された印加電圧値を電圧基準値として保存する第 3 の工程と、

この第 3 の工程で保存された電圧基準値に基づいて受光感度調整範囲を設定する第 4 の工程とを有することを特徴とするフォトマルチプライヤの感度調整方法。

【請求項 4】 前記第 2 の工程は、前記標本を走査したとき取得された輝度情報の最大輝度値と最小輝度値とからダイナミックレンジを算出するとともに、前記輝度情報の最大輝度値が前記デジタル変換での変換可能な最大値を超えていれば、前記ダイナミックレンジを数倍に設定して前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得するステップと、前記ダイナミックレンジが予め設定されたダイナミックレンジの最大値と最小値との範囲内にあるかを判断し、前記ダイナミックレンジが前記範囲外であれば、現在のダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得し、前記ダイナミックレンジが前記範囲内であれば、このときのダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出して決定するステップとを有することを特徴とする請求項 3 記載のフォトマルチプライヤの感度調整方法。

【請求項 5】 レーザ光源からの光ビームを標本に照射するとともに、該標本からの光をフォトマルチプライヤで受光させて輝度情報を取得する走査型レーザ顕微鏡において、調整基準となる標本からの光を前記フォトマルチプライ

ヤで受光したときの出力値が規定レベルになるように前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を調整する印加電圧供給手段と、

前記フォトマルチプライヤの出力値が規定レベルのときの前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を電圧基準値として記憶する記憶手段と、

この記憶手段に記憶した電圧基準値に基づいて前記フォトマルチプライヤへの印加電圧の範囲が感度調整範囲として割り当てられ前記印加電圧供給手段の前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を調整する感度調整手段とを具備したことを特徴とする走査型レーザ顕微鏡。

【請求項 6】 調整基準となる標本を光ビームで相対的に走査し、該標本からの光をフォトマルチプライヤで受光するとともに、このフォトマルチプライヤのアナログ信号からなる出力値に対して該フォトマルチプライヤの印加電圧を調整した後、前記フォトマルチプライヤの出力値をデジタル変換して前記標本の輝度情報を取得するためのフォトマルチプライヤの感度調整に用いられるコンピュータによって処理される感度調整プログラムを記録した記録媒体であって、

前記フォトマルチプライヤの印加電圧を初期設定する第 1 の工程と、前記標本を走査した時の前記フォトマルチプライヤの出力値が規定値になるような前記印加電圧を算出する第 2 の工程と、この第 2 の工程で算出された印加電圧値を電圧基準値として保存する第 3 の工程と、この第 3 の工程で保存された電圧基準値に基づいて受光感度調整範囲を設定する第 4 の工程とを有することを特徴とするフォトマルチプライヤの感度調整プログラムを記録した記録媒体。

【請求項 7】 前記第 2 の工程は、前記標本を走査したとき取得された輝度情報の最大輝度値と最小輝度値とからダイナミックレンジを算出するとともに、前記輝度情報の最大輝度値が前記デジタル変換での変換可能な最大値を超えていれば、前記ダイナミックレンジを数倍に設定して前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得するステップと、前記ダイナミックレンジが予め設定されたダイナミックレンジの最大値と最小値との範囲内にあるかを判断し、前記ダイナミックレンジが前記範囲外であれば、現在のダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得し、前記ダイナミックレンジが前記範囲内であれば、このときのダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出して決定するステップとを有することを特徴とする請求項 6 記載のフォトマルチプライヤの感度調整プログラムを記録した記録媒体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、光検出器として用いられるフォトマルチプライヤの感度調整方法、該感度

調整方法を採用した走査型レーザ顕微鏡および感度調整プログラムを記録した記録媒体に関するものである。

【0002】

【従来の技術】顕微鏡により観察する標本は、微弱な蛍光を発する生物標本から比較的反射率の高いものまで多種多様におよんでいる。走査型レーザ顕微鏡には、このような多種多様な標本に対しても通常の光学顕微鏡よりも高い解像力が要求されている。

【0003】そこで、このような要求に応えるため、標本からの光を受光する受光センサとして、フォトマルチプライヤが使用されている。

【0004】フォトマルチプライヤは、フォトダイオードに比べ高感度で、S/N比もよいことから高解像力の面で有効である。さらに高感度ゆえに標本に照射するレーザ光量が小さくて済むので、標本に与えるダメージを小さくできる。

【0005】また、印加電圧（以下HV）を変化させることにより、フォトマルチプライヤの光電変換効率を変化させ受光高感度を変更できるので、上述した多種多様の標本からの光（微弱光から高反射光）を観察するのに適している。

【0006】なお、フォトダイオードでは、受光感度を変更できないので、得られた検出信号を電氣的にゲインを与えて増幅率を変更する方法が用いられるが、この方法ではノイズ成分までが増幅されるため、S/N比が著しく悪化してしまう。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】ところが、このようなフォトマルチプライヤは、個体間で受光感度のバラツキが大きく、受光感度範囲が異なるため、これらフォトマルチプライヤを採用した走査型レーザ顕微鏡ごとに機差が生じるという問題があった。つまり、HVの設定電圧を同じにしても、フォトマルチプライヤごとに受光感度範囲が異なるため、同一標本の顕微鏡画像の明るさに違いが生じてしまう。このことは、特に、微弱な蛍光を観察するような場合、一方の顕微鏡では観察できて、同機種でも別の顕微鏡では、画像が暗くて観察できなくなるという問題が生じる。

【0008】また、メンテナンスなどでフォトマルチプライヤのみを交換すると、交換の前後で顕微鏡画像の輝度特性が変わってしまうため、使用者にとって使い勝手が著しく悪くなる。つまり、各種の検査装置として顕微鏡を使用する場合、観察条件を一定にして観察することが多いが、フォトマルチプライヤの交換により顕微鏡画像の輝度特性が変わってしまうことがあり、使用者にとって使いづらいものとなって、観察作業の能率低下を招くこともあった。

【0009】そこで、従来では、フォトマルチプライヤの受光感度のバラツキにより生じる機差を取り除くため、フォトマルチプライヤを選別してなるべく感度特性

の揃ったものを使用するようにしている。しかし、この方法では、選別作業に手間がかかり、また、きめ細かな選別を行っても、完全に特性が一致するフォトマルチプライヤを選別することは、非常に難しいことであった。

【0010】本発明は上記事情に鑑みてなされたもので、フォトマルチプライヤの受光感度範囲のバラツキをなくすることができるフォトマルチプライヤの感度調整方法、該感度調整方法を採用した走査型レーザ顕微鏡および感度調整プログラムを記録した記録媒体を提供することを目的とする。

【0011】

【課題を解決するための手段】請求項1記載の発明は、調整基準となる標本からの光を受光したときのフォトマルチプライヤの出力値を規定レベルにするような前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を電圧基準値とし、この電圧基準値に基づいて前記フォトマルチプライヤへの印加電圧の範囲を感度調整範囲として設定することを特徴としている。

【0012】請求項2記載の発明は、請求項1記載の発明において、前記調整基準となる標本は、観測対象の中で最も反射率が低く暗い標本からなることを特徴としている。

【0013】請求項3記載の発明は、レーザ光を調整基準となる標本に走査し、該標本からの反射光をフォトマルチプライヤで受光するとともに、このフォトマルチプライヤのアナログ信号からなる出力値に対して該フォトマルチプライヤの印加電圧を調整した後、前記フォトマルチプライヤの出力値をデジタル変換して前記標本の輝度情報を取得するためのフォトマルチプライヤの感度調整方法において、前記フォトマルチプライヤの印加電圧を初期設定する第1の工程と、前記標本を走査した時の前記フォトマルチプライヤの出力値が規定値になるような前記印加電圧を算出する第2の工程と、この第2の工程で算出された印加電圧値を電圧基準値として保存する第3の工程と、この第3の工程で保存された電圧基準値に基づいて受光感度調整範囲を設定する第4の工程とを有することを特徴としている。

【0014】請求項4記載の発明は、請求項3記載の発明において、前記第2の工程は、前記標本を走査したとき取得された輝度情報の最大輝度値と最小輝度値とからダイナミックレンジを算出するとともに、前記輝度情報の最大輝度値が前記デジタル変換での変換可能な最大値を超えていれば、前記ダイナミックレンジを数倍に設定して前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得するステップと、前記ダイナミックレンジが予め設定されたダイナミックレンジの最大値と最小値との範囲内にあるかを判断し、前記ダイナミックレンジが前記範囲外であれば、現在のダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得し、前記ダイナミックレンジが前記範囲内に

あれば、このときのダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出して決定するステップとを有することを特徴としている。

【0015】請求項5記載の発明は、レーザ光源からの光ビームを標本に照射するとともに、該標本からの光をフォトマルチプライヤで受光させて輝度情報を取得する走査型レーザ顕微鏡において、調整基準となる標本からの光を前記フォトマルチプライヤで受光したときの出力値が規定レベルになるように前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を調整する印加電圧供給手段と、前記フォトマルチプライヤの出力値が規定レベルのときの前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を電圧基準値として記憶する記憶手段と、この記憶手段に記憶した電圧基準値に基づいて前記フォトマルチプライヤへの印加電圧の範囲が感度調整範囲として割り当てられ前記印加電圧供給手段の前記フォトマルチプライヤへの印加電圧を調整する感度調整手段とを具備したことを特徴としている。

【0016】請求項6記載の発明は、レーザ光を調整基準となる標本に走査し、該標本からの反射光をフォトマルチプライヤで受光するとともに、このフォトマルチプライヤのアナログ信号からなる出力値に対して該フォトマルチプライヤの印加電圧を調整した後、前記フォトマルチプライヤの出力値をデジタル変換して前記標本の輝度情報を取得するためのフォトマルチプライヤの感度調整に用いられるコンピュータによって処理される感度調整プログラムを記録した記録媒体であって、前記フォトマルチプライヤの印加電圧を初期設定する第1の工程と、前記標本を走査した時の前記フォトマルチプライヤの出力値が規定値になるような前記印加電圧を算出する第2の工程と、この第2の工程で算出された印加電圧値を電圧基準値として保存する第3の工程と、この第3の工程で保存された電圧基準値に基づいて受光感度調整範囲を設定する第4の工程とを有することを特徴としている。

【0017】請求項7記載の発明は、請求項6記載の発明において、前記第2の工程は、前記標本を走査したとき取得された輝度情報の最大輝度値と最小輝度値とからダイナミックレンジを算出するとともに、前記輝度情報の最大輝度値が前記デジタル変換での変換可能な最大値を超えていれば、前記ダイナミックレンジを数倍に設定して前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得するステップと、前記ダイナミックレンジが予め設定されたダイナミックレンジの最大値と最小値との範囲内にあるかを判断し、前記ダイナミックレンジが前記範囲外であれば、現在のダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出し直し、再び前記標本の輝度情報を取得し、前記ダイナミックレンジが前記範囲内であれば、このときのダイナミックレンジに基づいて前記印加電圧を算出して決定するステップとを有することを特徴としている。

【0018】この結果、本発明によれば、個体間で受光感度のバラツキが大きいフォトマルチプライヤを用いても受光感度範囲を同じに設定できるので、同一標本からの輝度情報を一定にでき、また、メンテナンスなどでフォトマルチプライヤのみを交換した場合も、交換の前後での輝度特性を変えないものにできる。

【0019】また、本発明によれば、顕微鏡ごとに異なるフォトマルチプライヤが用いられても、フォトマルチプライヤ間の受光感度範囲を同じに設定できることで、顕微鏡ごとの機差をなくすることができる。

【0020】

【発明の実施の形態】以下、本発明の実施の形態を図面に従い説明する。

【0021】（第1の実施の形態）図1は、本発明のフォトマルチプライヤの感度調整方法が適用される落射型の走査型レーザ顕微鏡の概略構成を示している。

【0022】図において、1は、等価的に点光源と考えられるレーザ光源で、このレーザ光源1からの光ビーム2は、NDフィルタ3を透過し最適光量に調光される。ここで、NDフィルタ3は、NDフィルタ駆動部4により光ビーム2の透過率が調整できるように構成されている。

【0023】NDフィルタ3を透過して光量を調整された光ビーム2は、ビームスプリッタ5を透過して第1の光偏向器6に入射される。この第1の光偏向器6は、後述する対物レンズ14の瞳13と共役な位置に配置されるもので、光偏向器駆動部7により光ビーム2の一方の偏向を制御するようにしている。ここで、第1の光偏向器6が偏向を行っていない場合は、光ビーム2は、そのまま光軸71に沿って進み、第1の光偏向器6が偏向を行っている場合は、光ビーム2は走査され、その方向と中心が軸外主光線72と一致される。

【0024】これら光軸71または軸外主光線72を通る光ビーム2は、瞳伝送レンズ8、9を透過して第2の光偏向器10に入射される。この第2の光偏向器10も、光偏向器駆動部7により光ビーム2の他方向の偏向を制御するもので、ここでは、第1の光偏向器6がX方向の走査を行うとすると、第2の光偏向器10ではY方向の走査を行うようにしている。

【0025】そして、これら第1の光偏向器6と第2の光偏向器10により二次元方向に走査された光ビーム2は、瞳投影レンズ11および結像レンズ12を通過して対物レンズ14の瞳13に入射され、対物レンズ14によって集光され、標本15上に点状光として照射される。この場合、標本15上の点状光は、第1の光偏向器6と第2の光偏向器10によりXY方向に二次元走査される。

【0026】一方、標本15から反射された光ビーム2は、対物レンズ14と瞳13を透過され、瞳13と結像レンズ12と瞳投影レンズ11を通して第2の光偏向器

10まで戻され、さらに瞳伝送レンズ9、8、第1の光偏向器6を通過してビームスプリッタ5まで戻される。つまり、標本15から反射された光ビーム2は、標本15に入射した時と同じ光路を逆に通ってビームスプリッタ5まで戻される。

【0027】そして、ビームスプリッタ5により検出ビーム16として取り出される。この場合、検出ビーム16は、第2の光偏向器10と第1の光偏向器6を通過して戻ってきているので、軸外を走査しても動くことがない。

【0028】また、検出ビーム16は、集光レンズ17によって点状に絞られ、集光レンズ17の集光位置に設けられたピンホール18を通過してフォトマルチプライヤ19に標本15の1点からの反射光として入射される。

【0029】フォトマルチプライヤ19に入射された検出ビーム16は、フォトマルチプライヤ19内部で光電変換される。この場合、フォトマルチプライヤ19は、検出ビーム16の強弱を電流の強弱に変換し、この電流をさらにI-V変換して電圧値として標本15からの反射光の輝度情報として出力する。

【0030】フォトマルチプライヤ19からの輝度情報は、画像表示処理部20に取り込まれる。画像表示処理部20は、光偏向器駆動部7から第1の光偏向器6と第2の光偏向器10の現在の偏向角度を読み取り、この角度から標本15上の光ビーム2の照射位置を求め、モニタ21にフォトマルチプライヤ19からの輝度情報を表示する。

【0031】フォトマルチプライヤ19には、印加電圧(HV)供給部22が接続されている。印加電圧(HV)供給部22は、フォトマルチプライヤ19に所定の印加電圧(HV)を供給するもので、この印加電圧(HV)により入射光の光電変換の増幅率(ゲイン)を変化させるようにしている。この場合、印加電圧(HV)供給部22よりフォトマルチプライヤ19に供給される印加電圧(HV)は、後述する感度調整により設定される電圧基準値(HVm)として、不揮発性メモリからなるメモリ部23に記憶される。

【0032】印加電圧(HV)供給部22には、画像調整部24が接続されている。この画像調整部24は、感度調整部241とND調整部242を有している。

【0033】ここで、感度調整部241は、印加電圧(HV)供給部22に対しフォトマルチプライヤ19の感度調整を指示するもので、例えば、顕微鏡使用者がモニタ21の画面を見ながら輝度調整を行なうようにしている。ND調整部242は、上述したNDフィルタ駆動部4に対しNDフィルタ3の透過率を調整するための駆動を指示するもので、モニタ21の画面が明る過ぎて感度調整で対応しきれないような場合、NDフィルタ3によるレーザ透過率を小さくして光ビーム2を適正な光量にすることで最適な画面の明るさを得るようにしてい

る。

【0034】次に、このように構成した走査型レーザ顕微鏡に用いられるフォトマルチプライヤ19の感度調整の方法を図2のフローチャートにより説明する。まず、ステップ201で、レーザ光源1の光ビーム2が所定の射出光量になるようにレーザパワーメータなどを用いて確認しながら調整する。次に、ステップ202で、フォトマルチプライヤ19に印加する電圧(HV)にデフォルト値を設定する。ここでは、デフォルト値として-900Vを設定する。

【0035】次いで、ステップ203で、基準標本の観察を行なう。この場合、レーザ光源1からの光ビーム2を基準標本に照射し、この基準標本からの反射光をフォトマルチプライヤ19で受光し、その出力値に応じた輝度情報をモニタ21に表示する。なお、ここでの基準標本としては、観測対象標本の中で、最も反射率が低くて暗く、平坦で反射率の均一なもの、例えば、スライドガラス表面などが使用される。また、NDフィルタ3は、透過率が高い部分が用いられる。

【0036】次に、ステップ204で、基準標本からの反射光に対するフォトマルチプライヤ19の出力値が規定レベルになるように印加電圧(HV)の値を調整する。ここでは、出力値の規定レベルは、例えば2V_{p-p}とする。そして、ステップ205で、規定レベル2V_{p-p}を得るための印加電圧(HV)を電圧基準値(HVm)として、メモリ部23に記憶させる。

【0037】そして、ステップ206で、メモリ部23に記憶した電圧基準値(HVm)から所定電圧(例えば800V)だけ高い電圧までを顕微鏡使用者が使用できる感度調整範囲として設定し、フォトマルチプライヤ19の感度調整を終了する。

【0038】図3は、このような方法で感度調整されたフォトマルチプライヤ19の印加電圧(HV)と受光感度の関係を模式的に示している。

【0039】この場合、フォトマルチプライヤ19として、図3(a)に示すHV=0~-1000Vまでの受光可能範囲をAで示すフォトマルチプライヤPMT1と、同図(c)に示すHV=0~-1000Vまでの受光可能範囲をBで示すフォトマルチプライヤPMT2を考えると、まず、フォトマルチプライヤPMT1について、上述したように基準標本の観察を行ない、基準標本からの反射光に対するフォトマルチプライヤPMT1の出力値が規定レベル(2V_{p-p})になるように印加電圧(HV)を調整する。この時の印加電圧(HV)が電圧基準値(HVm)となり、ここで、同図(b)に示すように、HV_{m1}=-850Vであったとすると、この電圧基準値(HVm)から800V高い電圧まで、つまり-850~-50Vまでが、顕微鏡使用者が調整できる感度調整範囲となる。

【0040】同様にしてフォトマルチプライヤPMT2

についても、基準標本の観察を行ない、基準標本からの反射光に対するフォトマルチプライヤPMT2の出力値が規定レベル(2Vp-p)になるように印加電圧(HV)を調整する。この時の印加電圧(HV)、つまり電圧基準値(HVm)は、同図(d)に示すようにHVm2=-950Vであったとすると、この電圧基準値(HVm)から800V高い電圧まで、つまり-950~-150Vまでが、顕微鏡使用者が調整できる感度調整範囲となる。

【0041】この場合、受光可能範囲Aで示すフォトマルチプライヤPMT1と受光可能範囲Bで示すフォトマルチプライヤPMT2は、出力値が規定レベル(2Vp-p)にあるときの電圧基準値(HVm)で、受光感度が同じになるので、フォトマルチプライヤPMT1の-850~-50Vの感度調整範囲とフォトマルチプライヤPMT2の-950~-150Vの感度調整範囲での受光感度特性は、全く同じものとなる。これにより、感度調整部241の調整範囲に対し、フォトマルチプライヤPMT1の場合は、-850~-50Vの感度調整範囲を割り当て、フォトマルチプライヤPMT2の場合は、-950~-150Vの感度調整範囲を割り当てれば、感度調整部241の調整範囲での操作により、同様な受光感度の調整を行なうことができる。

【0042】従って、このようにすれば、個体間で受光感度のバラツキが大きく、受光感度範囲が異なるフォトマルチプライヤ19を用いた場合も、フォトマルチプライヤ19ごとの受光感度範囲を同じにできるので、同一標本からの輝度情報を同じにでき、これにより、微弱な蛍光を観察するような場合も、一方の顕微鏡では観察できて、同機種でも別の顕微鏡では、画像が暗くて観察できなくなるような不都合を解消できる。

【0043】また、メンテナンスなどで、フォトマルチプライヤ19を交換するような場合も、上述の方法によりメモリ部23に記憶する電圧基準値(HVm)のみを書き換えるだけで、交換前後の受光感度の差異を無くすることができるので、観察条件を一定にして観察する場合に、顕微鏡画像の輝度特性が変わってしまうようなことがなくなり、使用者に対する顕微鏡の使い勝手を改善し、観察作業の能率の向上を図ることができる。

【0044】(第2の実施の形態)図4は、本発明の第2の実施の形態の概略構成を示すもので、図1と同一部分には、同符号を付している。

【0045】この場合、図1で示した画像調整部24とメモリ部23を省略し、これらに代わってPCソフトウェア25を設けている。

【0046】この場合も、上述した図2に示すフローチャートが実行されるが、ここでは、ステップ205で、規定レベル2Vp-pを得るための印加電圧(HV)を電圧基準値(HVm)として、PCソフトウェア25の内部定数として保存し、これら内部定数により、ステッ

プ206に準じて電圧基準値(HVm)から所定電圧(例えば800V)だけ高い電圧までを感度調整範囲として設定し、フォトマルチプライヤ19の感度調整を行なうようになる。

【0047】このようにしても、上述した第1の実施の形態と同様な効果を期待でき、さらに、電圧基準値(HVm)をソフトウェア上で管理できるので、不揮発性メモリのような記憶素子を省略でき、製品原価を低減できるという効果を期待できる。

【0048】(第3の実施の形態)次に、フォトマルチプライヤの感度調整をコンピュータプログラムにより実現する場合を説明する。

【0049】図5は、パーソナルコンピュータ(以下パソコン)を使用した場合の概略構成を示すもので、図4と同一部分には、同符号を付している。

【0050】この場合、図4で示したPCソフトウェア25と画像表示処理部20を省略し、これらに代えてパソコン26とオフセット演算部31を設けている。

【0051】パソコン26は、記憶部27、演算部28、表示部29、A/D変換器30、D/A変換器32、データバス33、主メモリ34、I/F35、I/F36、I/F37を有している。

【0052】記憶部27には、MO、ハードディスクまたはフロッピー(登録商標)ディスクなどの記録媒体が用いられ、フォトマルチプライヤ19を調節するための各種設定値を始め制御を行う、制御プログラム27aが保存されている。制御プログラム27aは、主メモリ34にロードされ、演算部28により実行されるもので、オフセット演算部31に対するオフセットの決定、HV供給部22の印加電圧値の決定、NDフィルタ駆動部4に対してのNDフィルタの透過率を調整するための駆動指示を始め、後述するフォトマルチプライヤ19の感度調整のための処理などを可能にしている。

【0053】オフセット演算部31に対する制御プログラム27aのオフセットは、D/A変換器32においてデジタル信号からアナログ信号に変換されオフセット演算器31に送られてオフセット設定が行われる。また、フォトマルチプライヤ19で受光される基準標本からの反射光に応じた出力(アナログ電気信号)は、オフセット演算部31に設定されているオフセットが加えられ、A/D変換器30においてデジタル信号に変換される。さらに、制御プログラム27aにより決定されるHV供給部22の印加電圧値は、I/F35を介してHV供給部22に通知され、NDフィルタ駆動部4に対してのNDフィルタ切替え指示は、I/F36を介してNDフィルタ駆動部4に通知される。また、光偏向器駆動部7から第1の光偏向器6と第2の光偏向器10での現在の偏向角度はI/F37を介して通知される。

【0054】一方、表示部29は各種情報を表示し、データバス33は、表示部29、記憶部27、演算部2

8、A/D変換器30との間でデータのやり取りをする。

【0055】なお、制御プログラム27aはパソコン26に接続されている図示しないネットワークなど通信媒体を介して遠隔地にあるサーバコンピュータからダウンロードして実行することも可能である。

【0056】次に、このような制御プログラム27aによるフォトマルチプライヤ19の感度調整のための動作を図6に示すフローチャートにより説明する。

【0057】まず、ステップ501において、レーザ光源1の光ビーム2が所定の出射光量になるようにレーザパワーメーターなどを用いて確認しながら調整する。

【0058】次いで、ステップ502において、HV供給部22の印加電圧値HVとオフセット演算部31のオフセット値Offsetを設定する。この場合の各種のデフォルト値はパソコン26の記憶部27または主メモリ34に定数として保存されており、ここでのデフォルト値として、印加電圧HVを-900V、オフセット値Offsetを0に設定する。

【0059】次に、ステップ503で、基準となる標本を光ビーム2で走査し観察する。この場合、レーザ光源1からの光ビーム2を基準標本に照射し、この基準標本からの反射光をフォトマルチプライヤ19で受光し、その出力（アナログ電気信号）はオフセット演算部31を通して調整し、A/D変換器30によりデジタル電気信号に変換した後、データバス33を介して表示部29より輝度情報としてモニタ21に表示する。

【0060】次に、ステップ504で、基準標本からの反射光に対するフォトマルチプライヤ19の出力値が規定レベルになるようにHV供給部22の印加電圧値HVを調整する。この場合、記憶部27に保存された制御プログラム27aを用いた演算部28での処理によりフォトマルチプライヤ19の出力値が規定レベルになるようなHV供給部22の印加電圧値HVが求められ、この印加電圧値HVがHV供給部22に設定される。

【0061】ステップ505において、フォトマルチプライヤ19の出力信号が規定レベルになるHV供給部22の印加電圧値HVを電圧基準値HV_mとして記憶部27に保存する。

【0062】そして、ステップ506で、記憶部27に記憶した電圧基準値HV_mおよび所定電圧（例800V）に基づいて、制御プログラム27aを用いた演算部28での処理により電圧基準値HV_mから所定電圧だけ高い電圧までをフォトマルチプライヤ19の感度調整範囲として設定する。

【0063】次に、このようなフォトマルチプライヤ19の感度調整のための動作のうち、ステップ503とステップ504での動作について、図7に示すフローチャートを用いてさらに詳細に説明する。

【0064】ところで、A/D変換器30の分解能を、

例えば12ビットとすれば、フォトマルチプライヤ19の出力値に対して4096段階の精度でダイナミックレンジを測ることができる。そして、このダイナミックレンジを精度高くかつノイズの影響を避けて測れるようにするためには、フォトマルチプライヤ19の出力値から得られる基準標本の画像データの最大輝度値I_{max}を、できる限りA/D変換器30によりA/D変換可能な最大値AD_{max}に近づけ、且つ、この最大値AD_{max}を超えないようなフォトマルチプライヤ19へのHV供給22の印加電圧HVを設定すればよいことになる。

【0065】そこで、まず、ステップ601で、基準標本からの反射光を、HV供給部22に設定された印加電圧値による感度でフォトマルチプライヤ19により受光する。フォトマルチプライヤ19の出力値（アナログ電気信号）は、その後オフセット演算部31により初期設定されたオフセット値Offset（=0）が加えられ、A/D変換器30によりデジタル電気信号に変換され、デジタル電気信号に対する演算部28での処理により基準標本の画像データを取得する。

【0066】次に、ステップ602において、取得した基準標本の画像データから最小輝度値I_{min}と最大輝度値I_{max}とを求めるとともに、演算部28により最大輝度値I_{max}から最小輝度値I_{min}を差し引くことで基準標本の画像データのダイナミックレンジDiffを算出する。

【0067】なお、このステップ602の処理は、ステップ601の処理中において標本にレーザ光を走査しながら行ってもよい。

【0068】次に、ステップ603において、ステップ602で算出した基準標本の画像データの最大輝度値I_{max}がA/D変換器30でA/D変換可能な最大値AD_{max}を超えているかまたは等しいか否かを演算部28で判断する。

【0069】この判断の結果、最大輝度値I_{max}がA/D変換可能な最大値AD_{max}を超えていなければ、ステップ604に進み、ステップ603で算出したダイナミックレンジDiffが予め設定されたダイナミックレンジの最小値Diff_{min}よりも小さいか否かを判断する。

【0070】一方、最大輝度値I_{max}がA/D変換可能な最大値AD_{max}を超えているか又は等しければ、演算部28はステップ608に進み、ステップ602で算出したダイナミックレンジDiffを2倍に設定し、ステップ607に移ってフォトマルチプライヤ19への印加電圧HV及びオフセット値Offsetを算出し、再びステップ601へ戻る。

【0071】次に、ステップ604での判断の結果、ダイナミックレンジDiffが最小値Diff_{min}よりも大きければ、演算部28はステップ605に進み、ダイナミックレンジDiffが予め設定されたダイナミック

レンジの最大値 $D_{iff_{max}}$ よりも小さいか又は等しいかを判断する。

【0072】ここでのステップ604での判断は、あまりにもダイナミックレンジ D_{iff} が小さいときに、不適切なフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV 及びオフセット値 $Offset$ が設定されないようにするためである。

【0073】一方、ダイナミックレンジ D_{iff} が最小値 $D_{iff_{min}}$ よりも小さければ、演算部28はステップ609に移り、ステップ602で算出したダイナミックレンジ D_{iff} を予め定められたダイナミックレンジの最小値 $D_{iff_{min}}$ に設定し、ステップ607に移ってフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV 及びそのオフセット値 $Offset$ を算出し直し、再びステップ601へ戻る。

【0074】このようにして、演算部28では、ステップ603での判断の結果、基準標本の画像データの最大輝度値 I_{max} が A/D 変換可能な最大値 AD_{max} と等しいか又は超えている場合、またはステップ604及びステップ605での判断の結果、ダイナミックレンジ D_{iff} がダイナミックレンジの最大値 $D_{iff_{max}}$ と最小値 $D_{iff_{min}}$ との範囲を超えている場合に、それぞれフォトマルチプライヤ19への印加電圧値 HV 及びそのオフセット値 $Offset$ を算出し直している。つまり、こうすることで、取り込まれる基準標本の画像データの最大輝度値 I_{max} も含めて A/D 変換後の値がオーバーフローしないようにしている。このため、フォトマルチプライヤ19の受光感度は、基準標本の画像データ内の最大輝度値 I_{max} に対応した出力電流の最大値ができるだけ A/D 変換器30で A/D 変換できる最大値 AD_{max} に近く、かつ最大値 AD_{max} を超えないように設定され、基準電圧値 HV_m が決定される。

【0075】ここで、ステップ606及び607におけるフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV 及びそのオフセット値 $Offset$ の算出について、さらに図8に示す算出フローチャートにしたがって説明する。

【0076】まず、演算部28は、ステップ701において、フォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV 及びオフセット演算部31のオフセット値 $Offset$ を算出する。この場合、フォトマルチプライヤ19の受光感度 G は、係数を K 、印加電圧を HV 、フォトマルチプライヤ19の電極の材質、構成により設定される定数を α (通常0.7~0.8)、フォトマルチプライヤ19の内部ダイノードの段数を n とすると、

$$G = K \cdot HV^{\alpha n}$$

により表される。なお、定数 α やダイノードの段数 n は、フォトマルチプライヤ19の受光感度特性を実験的に測定して、そこから算出された値を採用してもよい。

【0077】また、現時点で A/D 変換された後の基準標本の画像データのダイナミックレンジ D_{iff} を、 A

$/D$ 変換器30でデジタル値として扱える $D_{iff_{max}}$ まで引き上げるためのフォトマルチプライヤ19の受光感度 G は、

$$\begin{aligned} G &= D_{iff_{max}} / D_{iff} \\ &= K \cdot HV_1^{\alpha n} / K \cdot HV_2^{\alpha n} \\ &= (V_1 / V_2)^{\alpha n} \end{aligned}$$

となる。ここで、 HV_1 は新たに設定すべきフォトマルチプライヤ19への印加電圧、 HV_2 は現時点でのフォトマルチプライヤ19への印加電圧である。

【0078】これにより、新たに設定すべきフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV_1 は、

$$HV_1 = HV_2 \cdot G^{(1/\alpha n)}$$
 となる。

【0079】また、 A/D 変換された後の最小輝度値を AD_{min} とし、いつもこの最小輝度値を AD_{min} の前後に保つようにしたとき、オフセット演算部31で調整すべきオフセット値 $Offset$ は、

$$Offset = G \cdot I_{min} - AD_{min}$$
 となる。

【0080】次に、演算部28は、ステップ702において、オフセット値 $Offset$ が0よりも小さいか否かを判断し、この判断の結果、オフセット値 $Offset$ が0よりも大きければ、ステップ703に進んでフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV_1 及びオフセット演算部31のオフセット値 $Offset$ を設定する。一方、オフセット値 $Offset$ が0よりも小さければ、演算部28は、ステップ704に移ってオフセット値 $Offset$ を0に設定し、ステップ703に進んでフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV_1 及びオフセット演算部31のオフセット値 $Offset$ を設定する。

【0081】従って、このようにすれば、フォトマルチプライヤ19に対して印加電圧 HV を初期値に設定したときに取得される基準標本の画像データからダイナミックレンジ D_{iff} を算出するとともに、基準標本の画像データの最大輝度値 I_{max} が A/D 変換可能な最大値 AD_{max} を超えず、かつダイナミックレンジ D_{iff} が予め設定されたダイナミックレンジの範囲 ($D_{iff_{min}} < D_{iff}$, $D_{iff} \leq D_{iff_{max}}$) 内になる条件を満足するようにフォトマルチプライヤ19への印加電圧 HV 及びオフセット演算部31のオフセット値 $Offset$ を算出し直し、これに条件を満足するダイナミックレンジに基づいてフォトマルチプライヤ19の出力値が A/D 変換器30での入力レンジに応じた最適な値になるような受光感度を設定できるので、精度の高い感度調整範囲の設定を実現することができる。

【0082】また、前記標本画像データの最大輝度値 I_{max} が A/D 変換可能な最大値 AD_{max} を超えず、かつダイナミックレンジ D_{iff} が予め設定されたダイナミックレンジの範囲 ($D_{iff_{min}} < D_{iff}$, D_{iff}

$\Delta = D_{diff_max}$) 内になる条件を満足するように追い込みながらフォトマルチプライヤ19への印加電圧HV及びオフセット演算部31のオフセット値Offsetを決定するので、基準標本へのレーザー光の走査回数を最小限にできる。

【0083】なお、上述した実施の形態では、感度調整を行なう際の基準標本として観察対象の中で最も暗い標本を用いたが、最も暗い標本でなく最も明るい標本であってもよい。この場合は、電圧基準値(HVm)から800V低い電圧までを感度調整範囲とすればよい。また、基準標本は、どのような明るさのものでもよく、要は、基準標本で求めた電圧基準値(HVm)の値を基準として所定量の電圧領域を感度調整範囲とすればよい。さらに、上述では、落射型の走査型レーザー顕微鏡について述べたが透過型の走査型レーザー顕微鏡にも適用できる。

【0084】

【発明の効果】以上述べたように本発明によれば、個体間で受光感度のバラツキが大きいフォトマルチプライヤを用いても受光感度範囲を同じに設定できるので、同一標本からの輝度情報を一定にでき、また、メンテナンスなどでフォトマルチプライヤのみを交換した場合も、交換の前後での輝度特性を変えないものにできる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施の形態に適用される走査型レーザー顕微鏡の概略構成を示す図。

【図2】第1の実施の形態のフォトマルチプライヤの感度調整を説明するためのフローチャート。

【図3】第1の実施の形態のフォトマルチプライヤの感度調整を説明するための図。

【図4】本発明の第2の実施の形態に適用される走査型レーザー顕微鏡の概略構成を示す図。

【図5】本発明の第3の実施の形態に適用される走査型レーザー顕微鏡の概略構成を示す図。

【図6】第3の実施の形態のフォトマルチプライヤの感度調整を説明するためのフローチャート。

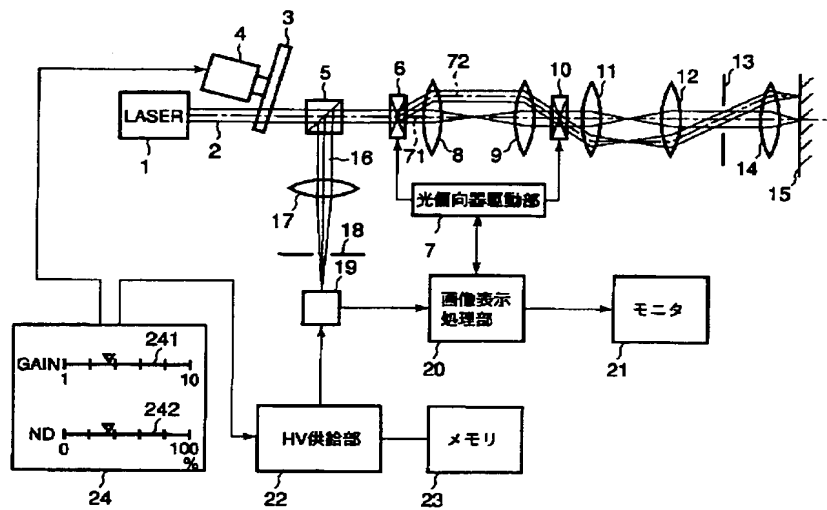
【図7】第3の実施の形態のフォトマルチプライヤの感度調整を説明するためのフローチャート。

【図8】第3の実施の形態のフォトマルチプライヤの感度調整を説明するためのフローチャート。

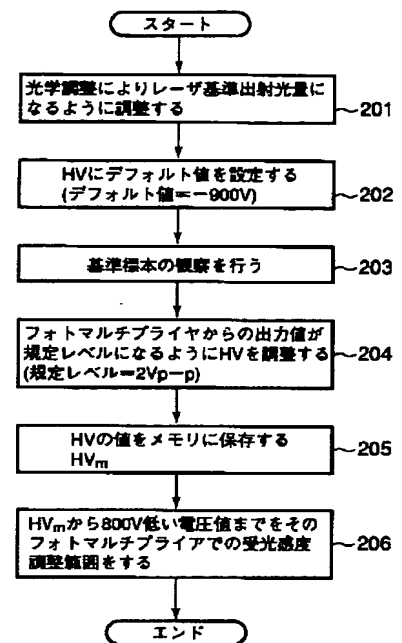
【符号の説明】

- 1…レーザー光源
- 2…光ビーム
- 3…NDフィルタ
- 4…NDフィルタ駆動部
- 5…ビームスプリッタ
- 6…第1の光偏向器
- 7…光偏向器駆動部
- 71…光軸
- 72…軸外主光線
- 8、9…瞳伝送レンズ
- 10…第2の光偏向器
- 11…瞳投影レンズ
- 12…結像レンズ
- 13…瞳
- 14…対物レンズ
- 15…標本
- 16…検出ビーム
- 17…集光レンズ
- 18…ピンホール
- 19…フォトマルチプライヤ
- 20…画像表示処理部
- 21…モニタ
- 22…印加電圧供給部
- 23…メモリ部
- 24…画像調整部
- 241…感度調整部
- 242…ND調整部
- 25…PCソフトウェア
- 26…パソコン
- 27…記憶部
- 27a…制御プログラム
- 28…演算部
- 29…表示部
- 30…A/D変換器
- 31…オフセット演算部
- 32…D/A変換器
- 33…データベース
- 34…主メモリ
- 35、36、37…I/F

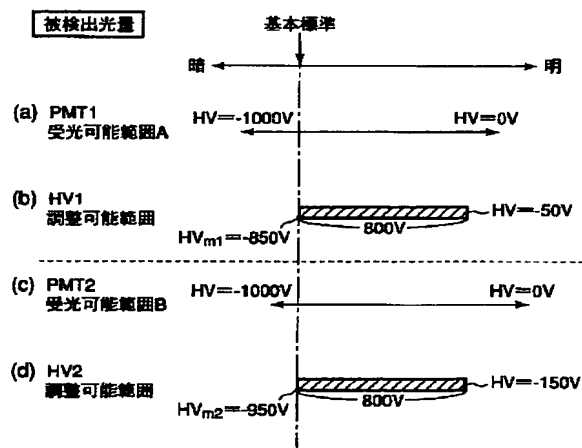
【図1】



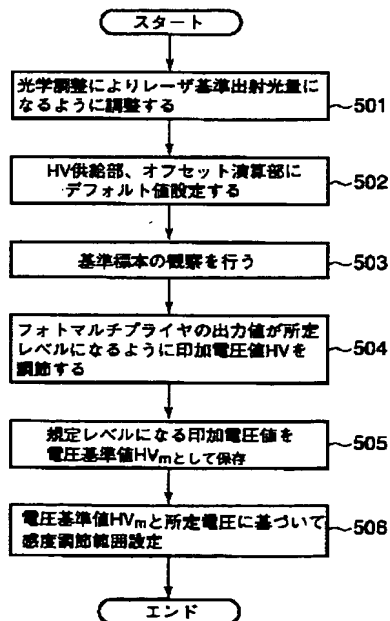
【図2】



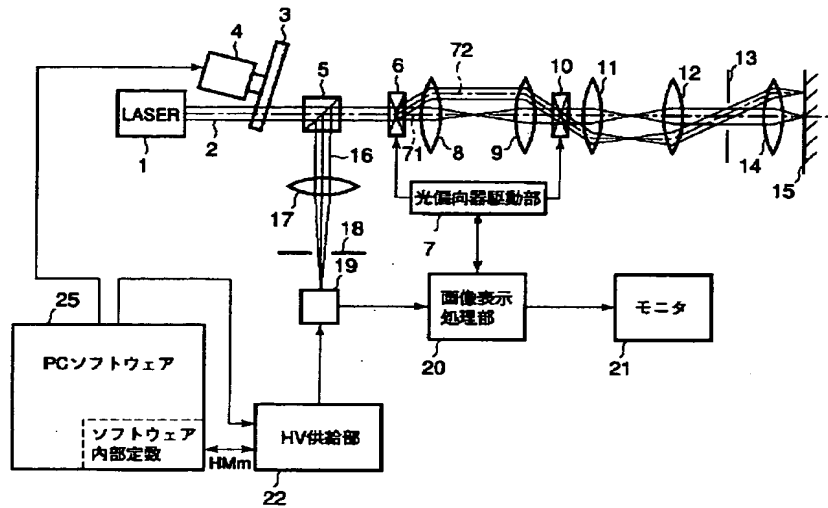
【図3】



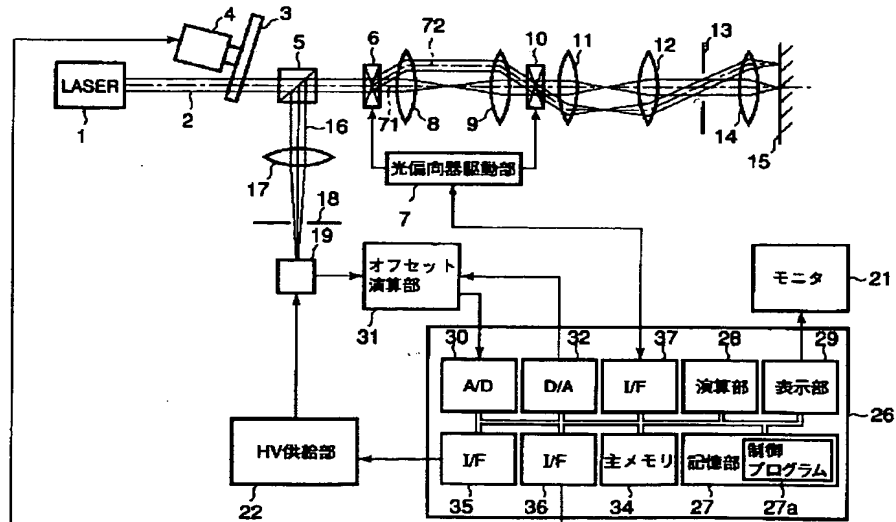
【図6】



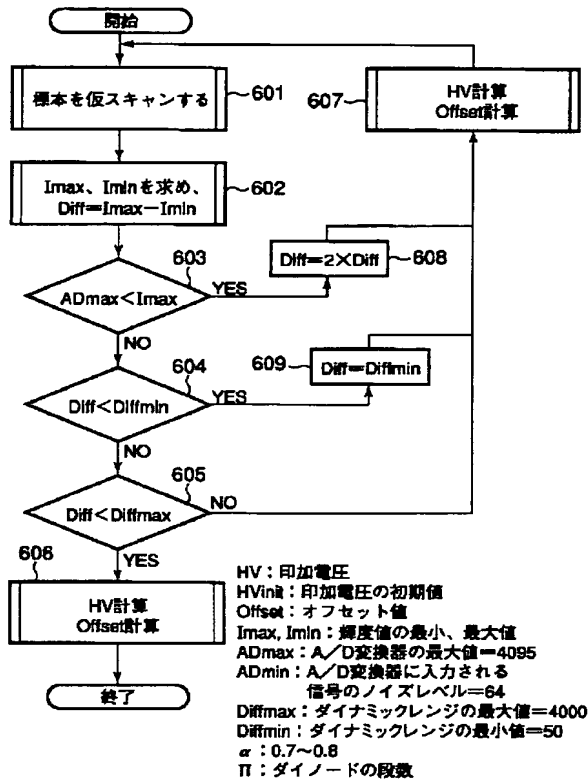
【図4】



【図5】



【図7】



【図8】

